DiaSorin Ireland Ltd.
Unit 13/14 Holly Avenue, Stillorgan Industrial Park, Blackrock
Co.Dublin - Ireland
www.diasorin.com

Modificaciones: 4, 11, nueva dirección de DiaSorin Ireland Ltd.;
Supresiones: -

LIAISON® Mycoplasma pneumoniae IgM (REF 317030)

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

El ensayo LIAISON® Mycoplasma pneumoniae IgM emplea la tecnología de la quimioluminiscencia (CLIA) en un ensayo inmunológico para la determinación cualitativa de anticuerpos específicos de clase IgM dirigidos contra el *Mycoplasma pneumoniae* en muestras de suero o plasma humano.
El ensayo debe realizarse en la serie de analizadores LIAISON®.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

Los micoplasmas son los organismos más pequeños que existen capaces de crecer en medios de cultivo acelulares. Infectan a los hombres, los animales, las plantas, los insectos y se observan en las aguas residuales. El nombre micoplasma deriva de la apariencia fungiforme de los organismos y de la plasticidad de la membrana externa que causa pleomorfismo.

Las neumonías, definidas también como neumonías contraídas en comunidad (community-acquired pneumonias, CAP) se dividen en típicas y atípicas según los síntomas y signos clínicos. El agente etiológico de las primeras es el *Streptococcus pneumoniae*, mientras que las últimas pueden transmitirse por *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* o *Legionella pneumophila* (5).

La infección es ubiquitaria y, por lo general, es endémica, con signos inespecíficos caracterizados por malestar general, mialgia, dolor de garganta, cefalea y síntomas en aumento en el aparato respiratorio durante un período de uno a cinco días. La tos es típicamente seca, opresiva y algunas veces paroxística y puede convertirse en una característica del cuadro clínico. Los signos físicos, como las crepitaciones pulmonares durante la inspiración, a menudo no son aparentes hasta que los exámenes radiográficos evidencian la presencia de una neumonía. El curso de la enfermedad es variable, pero la tos y los síntomas debidos al aparato respiratorio y las alteraciones radiográficas pueden persistir durante varias semanas. Los niños están sujetos a infecciones más frecuentes que los adultos; el desarrollo de complicaciones también está influido por la edad (3).
La enfermedad generalmente se limita al aparato respiratorio. Las manifestaciones extrapulmonares incluyen: síndrome de Stevens-Johnson y otros eritemas; artralgia; meningitis o encefalitis (y otras complicaciones neurológicas); miocarditis y pericarditis.

El *Mycoplasma pneumoniae* está provisto de una estructura especializada en una o en ambas extremidades, mediante la cual los microorganismos se enganchan a la superficie de la mucosa del aparato respiratorio y se hacen completamente resistentes a los antibióticos que actúan sobre la síntesis de la pared celular bacteriana (como la penicilina).
La estructura del *Mycoplasma pneumoniae* se caracteriza por dos proteínas de superficie principales, P1 (adesina, de 170 kD) y p30, que parece directamente implicada en la unión a los receptores. Como los adultos presentan una fuerte respuesta inmune a la P1 durante la infección, el gen de la P1 presenta variabilidad antigénica (6, 12). Recientemente se ha observado una elevada antigenicidad de la porción C-terminal de la proteína P1 de la cepa FH de *Mycoplasma pneumoniae* (que se utiliza en ambos ensayos LIAISON®).

La presencia de anticuerpos específicos anti-*Mycoplasma pneumoniae* es el principal indicador para el diagnóstico preciso de la enfermedad respiratoria aguda por *Mycoplasma pneumoniae*. Después de la infección inicial el sistema inmunitario normal responde con la síntesis rápida de anticuerpos que alcanzan un máximo entre tres y seis semanas después y en seguida disminuyen gradualmente durante meses o años. Como el período de incubación es largo, la respuesta de los anticuerpos a menudo ya es evidente cuando aparece la sintomatología (10).

El aumento aislado de los niveles de IgM específica anti-*Mycoplasma pneumoniae* a menudo puede indicar infección aguda, dado que los anticuerpos IgM aparecen dentro de una semana después de la infección inicial y aproximadamente dos semanas antes que los anticuerpos IgG (7). Sin embargo, la presencia de IgM se considera significativa sobre todo en la población pediátrica, en la que son menores las ocasiones de infecciones de repetición. Los adultos que han sido infectados repetidamente durante un período de varios años pueden no presentar una fuerte respuesta inmune de tipo IgM a los antígenos micoplásmicos (9). En estos casos la reinfección origina directamente una respuesta de tipo IgG; por lo tanto, encontrar un ensayo negativo para IgM no excluye con seguridad una infección aguda. Cuando se observa una respuesta de tipo IgM, ésta puede persistir durante meses o años después de la infección.En estos casos el hallazgo de un ensayo positivo para IgM no significa necesariamente una infección en curso o reciente.
Se ha demostrado que la determinación de los anticuerpos IgG es necesaria, puesto que los pacientes pueden no presentar una respuesta inmunitaria de tipo IgM o IgA (11). La respuesta de tipo IgG es la última en el tiempo y los niveles de IgG permanecen elevados durante como mínimo un año después de la infección.

3. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El método de determinación cualitativa de anticuerpos IgM específicos frente al *Mycoplasma pneumoniae* es el inmunoensayo indirecto mediante quimioluminiscencia (CLIA) de tipo *sándwich*. Lisado micoplásmico enriquecido con un antígeno recombinante de elevada especificidad y sensibilidad se usa para recubrir las partículas magnéticas (fase sólida) y un anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgM humana está enlazado a un derivado del isoluminol (conjugado anticuerpo-isoluminol). Durante la primera incubación, los calibradores, muestras o controles se diluyen con tampón A, que contiene IgG de cabra anti-IgG humana como reactivo de absorción para contener la interferencia de IgG humana específica para *Mycoplasma pneumoniae* o del factor reumatoide. Si están presentes en los calibradores, en las muestras o en los controles, los anticuerpos contra el *Mycoplasma pneumoniae* se unen a la fase sólida. Durante la segunda incubación, el anticuerpo conjugado reacciona con cualquier anticuerpo IgM humano al *Mycoplasma pneumoniae* unido a la fase sólida. El material no unido se elimina mediante un ciclo de lavado después de cada incubación.
A continuación se añaden los reactivos Starter que inducen una reacción de quimioluminiscencia instantánea. La señal luminosa, y por lo tanto la cantidad de conjugado anticuerpo-isoluminol, se mide con un fotomultiplicador en unidades relativas de luz (RLU) e indica la presencia o la ausencia de anticuerpos IgM contra el *Mycoplasma pneumoniae* en los calibradores, las muestras o los controles.

4. MATERIALES SUMINISTRADOS

Integral de reactivos

Partículas magnéticas (1,6 mL)	Partículas magnéticas recubiertas con lisado micoplásmico enriquecido con péptido recombinante (obtenido en *E. coli*), albúmina sérica bovina, tampón PBS, < 0,1% de azida sódica.
Calibrador 1 (0,6 mL)	Suero/plasma humano no reactivo para IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae*, albúmina sérica bovina, tampón fosfato, EDTA, detergentes, 0,2% ProClin® 300 y un colorante amarillo inactivo. Las concentraciones de los calibradores son calibradas contra una preparación interna de anticuerpos.
Calibrador 2 (0,6 mL)	Suero/plasma humano reactivo para IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae*, albúmina sérica bovina, tampón fosfato, EDTA, detergentes, 0,2% ProClin® 300 y un colorante azul inactivo. Las concentraciones de los calibradores son calibradas contra una preparación interna de anticuerpos.
Tampón A (15,8 mL)	IgG de cabra anti-IgG humana (reactivo de absorción), suero de cabra, albúmina sérica bovina, tampón fosfato, EDTA, detergentes, 0,2% ProClin® 300 y un colorante azul inactivo.
Conjugado (13,5 mL)	Anticuerpos monoclonales de ratón anti-IgM humana conjugados con un derivado de isoluminol, albúmina sérica bovina, tampón fosfato, 0,2% de ProClin® 300, conservantes y colorante amarillo inactivo.
Número de ensayos	50

Todos los reactivos se suministran listos para su uso. El orden de los reactivos refleja el orden con el que se han ensamblado los contenedores en el integral de reactivos.

Materiales requeridos, pero no suministrados

LIAISON® XL Analyzer	**LIAISON® Analyzer**
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016) LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015) LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200) – LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100) LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025) LIAISON® XL Cleaning Tool (REF 310995).	LIAISON® Module (REF 319130) – LIAISON® Starter Kit (REF 319102) o LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200) LIAISON® Light Check (REF 319101) LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100) LIAISON® Waste Bags (REF 450003) LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)

Otros materiales requeridos

Controles LIAISON® Mycoplasma pneumoniae IgM (negativo y positivo) (REF 317031).

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Todas las unidades de suero y plasma utilizadas para elaborar los componentes de este kit se han analizado y se han encontrado no reactivas a la presencia de HBsAg, anti-VHC, anti-VIH-1 y anti-VIH-2. Sin embargo, dado que ningún método de análisis puede garantizar totalmente la ausencia de agentes patógenos, todo el material de origen humano deberá considerarse potencialmente infeccioso y manipularse como tal.

6. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume ni se maquille en el laboratorio donde se realiza el ensayo.

No utilice la pipeta con la boca.

Evite el contacto directo con todo material potencialmente infeccioso mediante el uso de indumentaria protectora, como batas de laboratorio, gafas protectoras y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.

Evite las salpicaduras y la formación de aerosoles. El reactivo vertido debe limpiarse con una solución de hipoclorito sódico al 5%, y eliminarse como si se tratase de material potencialmente infeccioso.

Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales usados en el ensayo deben considerarse posibles transmisores de agentes infecciosos. Por consiguiente, su eliminación debe efectuarse de conformidad con las disposiciones y normas generales establecidas por las autoridades con jurisdicción sobre el laboratorio, así como con las leyes vigentes en cada país. Asimismo, es preciso incinerar los materiales desechables y descontaminar los residuos líquidos con una solución de hipoclorito sódico al 5% (concentración final) durante al menos media hora. Los materiales que puedan volver a utilizarse tendrán que esterilizarse en autoclave empleando un procedimiento de extraordinaria capacidad descontaminante (USP 24, 2000, p. 2143). Aunque la aplicación de un ciclo de descontaminación de una hora a 121°C suele considerarse adecuado, el usuario debe verificar su eficacia mediante una prueba inicial y el uso periódico de indicadores biológicos.

Los reactivos que contienen ProClin® 300 están catalogados como sustancias irritantes en las Directivas Europeas pertinentes:
R 43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
S 24 - Evítese el contacto con la piel.
S 37 - Úsense guantes adecuados.
S 60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

7. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

INTEGRAL DE REACTIVOS

Para manipular los reactivos es preciso adoptar una serie de precauciones importantes:

Resuspensión de las partículas magnéticas

Las partículas magnéticas deben estar completamente resuspendidas antes de colocar el integral en el instrumento. Realice los pasos indicados a continuación para garantizar la suspensión completa de las partículas:
Antes de quitar el precinto, gire la rueda pequeña del compartimento de partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte un color marrón. Agite horizontalmente el integral de reactivos con delicadeza y sumo cuidado para facilitar la suspensión de las partículas magnéticas (evite la formación de espuma). Controle visualmente el fondo del contenedor de las partículas magnéticas para cerciorarse de que no hayan quedado partículas magnéticas sedimentadas. Seque con sumo cuidado la superficie de cada pared para eliminar el líquido residual.
Si es necesario, repita el procedimiento hasta que las partículas magnéticas estén completamente resuspendidas.

Formación de espuma en los reactivos

Para garantizar las mejores prestaciones del integral, se recomienda evitar la formación de espuma en los reactivos. Respete las recomendaciones siguientes:
Antes de usar el integral, controle visualmente los reactivos y en especial los calibradores (segunda y tercera posición después del contenedor de partículas magnéticas) para asegurarse de que no se ha formado espuma. Si se observa la presencia de espuma tras la resuspensión de las partículas magnéticas, coloque el integral en el instrumento y deje que se disuelva la espuma. El integral está listo para el uso una vez que se ha disuelto la espuma, que ha permanecido en el instrumento y que se ha agitado.

Instalación del integral en el área de reactivos

LIAISON® XL Analyzer

– Coloque el integral en el área de reactivos del analizador con la etiqueta de código de barras orientada a la izquierda y espere 30 minutos antes de utilizarlo. Las partículas magnéticas se agitan automáticamente y se resuspenden por completo en el analizador.
– Consulte el manual del usuario del analizador para introducir las muestras y comenzar el ensayo.

LIAISON® XL Analyzer

– LIAISON® XL Analyzer incorpora un dispositivo magnético que favorece la dispersión de las micropartículas antes de colocar un integral de reactivos en el área de reactivos del analizador. Consulte los detalles en el manual del usuario del analizador.
  a. Coloque el integral de reactivos en la ranura específica.
  b. Deje el integral de reactivos en el dispositivo magnético durante al menos 30 segundos (varios minutos como máximo). Si es necesario, repita la operación.
– Coloque el integral en el área de reactivos del analizador con la etiqueta orientada a la izquierda y espere 15 minutos antes de utilizarlo. Las partículas magnéticas se agitan automáticamente y se resuspenden por completo en el analizador.

Consulte el manual del usuario del analizador para introducir las muestras y comenzar el ensayo.

CONTROLES

Para preparar y manipular los controles correctamente, consulte las instrucciones incluidas con el juego de controles LIAISON® Mycoplasma pneumoniae IgM.

8. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DEL INTEGRAL REACTIVO

– **Sellado**: Estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad.
– **Abierto en el instrumento o a 2-8°C**: Estabilidad mínima seis semanas.
  Si los controles permanecen dentro de los rangos previstos, se puede seguir usando el integral después de este intervalo de tiempo.
– Use siempre el mismo LIAISON® Analyzer con el integral de reactivos abierto.
– Use las gradillas suministradas con el LIAISON® Analyzer para mantener el integral en posición vertical.
– No lo congele.
– Mantenga el integral reactivo en posición vertical mientras esté guardado para garantizar una adecuada resuspensión de las partículas magnéticas.
– Evite su exposición a luz directa.

9. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El ensayo se puede efectuar en muestras de suero o plasma humano (incluido el suero recogido con tubos para la separación del suero). Se pueden utilizar anticoagulantes como el citrato sódico, el EDTA potásico y la heparina sódica. En el ensayo es fundamental utilizar el tipo adecuado de muestra. Recoja la sangre de forma aséptica mediante punción venosa, déjela coagular y separe el suero del coágulo lo antes posible. Al utilizar recipientes para la recogida y la separación del plasma con gel, siga al pie de la letra las instrucciones del fabricante. Antes del ensayo, clarifique por filtración o centrifugación las muestras que presenten material en suspensión, opalescencia, lipemia o residuos eritrocitarios. No use muestras fuertemente hemolizadas o lipémicas, ni muestras que contengan partículas o presenten contaminación microbiana evidente. Elimine las burbujas de aire que pueda haber antes del ensayo. Si el ensayo se lleva a cabo dentro de los ocho días sucesivos a la recogida, las muestras se pueden conservar a 2-8°C. En caso contrario, se deben subdividir en alícuotas congeladas a –20°C o a temperaturas inferiores. Si las muestras han sido descongeladas, agítelas con cuidado antes de realizar el ensayo. Nueve muestras de diferente reactividad se han guardado durante ocho días a 2-8°C, y nueve muestras se han sometido a cinco ciclos de congelación y descongelación. Los resultados no han presentado diferencias significativas. El volumen mínimo de muestra necesario para una determinación es 170 µL (20 µL de muestra + 150 µL de volumen muerto).

10. CALIBRACIÓN

La prueba de los calibradores específicos del ensayo permite utilizar los valores RLU (unidades relativas de luz) detectados para ajustar la curva maestra asignada. Con cada solución de los calibradores se pueden realizar cuatro calibraciones.

La calibración debe realizarse por triplicado cada vez que se verifique al menos una de las siguientes condiciones:

– Se usa un nuevo lote de reactivos Starter.
– La calibración anterior fue realizada más de cuatro semanas antes.
– Se usa un nuevo lote de integral reactivo.
– El analizador ha recibido asistencia técnica.
– Los valores de control están fuera de los rangos esperados.

LIAISON® Analyzer: Los valores de los calibradores están almacenados en los códigos de barras de la etiqueta del integral.
LIAISON® XL Analyzer: Los valores de los calibradores están almacenados en la etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID).

11. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Para obtener resultados correctos, es preciso respetar estrictamente las instrucciones proporcionadas en el manual del analizador.

LIAISON® Analyzer. Cada parámetro del test se identifica mediante el código de barras incluido en la etiqueta del integral de reactivos. Si el código de barras no se puede leer, no será posible usar el integral y tendrá que desecharse. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

LIAISON® XL Analyzer. Cada parámetro del test se identifica mediante la información codificada en la etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID) del integral de reactivos. Si la etiqueta no se puede leer, no será posible usar el integral y tendrá que desecharse. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

Las operaciones del analizador son las siguientes:

1. Dispensación de los calibradores, los controles o las muestras en el módulo de reacción
2. Distribuye el tampón A y las partículas magnéticas recubiertas
3. Incubación
4. Lavado con líquido de lavado/líquido del sistema
5. Dispensación del conjugado en el módulo de reacción
6. Incubación
7. Lavado con líquido de lavado/líquido del sistema
8. Dispensación de los reactivos Starter y medición de la luz emitida

Advertencia - *Es preciso realizar el mantenimiento con LIAISON® XL Cleaning Tool (REF 310995) (consulte las instrucciones de uso de LIAISON® XL Cleaning Tool para obtener información detallada).*

12. CONTROL DE CALIDAD

Los controles LIAISON® deben analizarse individualmente para determinar la eficacia del ensayo. En el control de calidad es preciso utilizar los controles LIAISON® Mycoplasma pneumoniae IgM
(a) por lo menos una vez cada día de uso,
(b) cuando se usa un nuevo integral de reactivos,
(c) cuando se calibra el kit,
(d) cuando se usa un nuevo lote de reactivos Starter,
(e) para determinar la eficacia del integral reactivo abierto después de más de seis semanas, o conforme a lo estipulado en las normas y los requisitos de los reglamentos locales o los organismos acreditados.

Los valores de control deben permanecer dentro de los rangos previstos. Cada vez que el valor de uno o ambos controles no coincida con el rango esperado, habrá que repetir la calibración y evaluar de nuevo los controles. Si los valores siguen fuera de rango tras una calibración satisfactoria, será preciso repetir la prueba usando un frasco de control sin abrir. Los resultados no deben notificarse si los valores de control están fuera del rango previsto.

Antes de utilizar otros controles es preciso evaluar su compatibilidad con este ensayo, así como establecer los intervalos de valores que se van a aplicar a todos los materiales de control de calidad utilizados.

13. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El analizador calcula automáticamente los niveles de IgM contra el *Mycoplasma pneumoniae*, expresados como valor de índice y clasifica los resultados. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

Aunque los calibradores y los controles pueden generar resultados de RLU o dosis distintos en LIAISON® y LIAISON® XL, los resultados de los pacientes son equivalentes.

Intervalo del ensayo. Valor de índice de 0,1 a 27 de IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae*.

13.1. Interpretación de los resultados obtenidos en muestras individuales

El ensayo de IgG e IgM es indispensable para una interpretación fiable de los resultados.

El valor de corte que discrimina entre la presencia y la ausencia de anticuerpos IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* tiene un valor de índice de 10. Los resultados de las muestras deben interpretarse como sigue:
Las muestras con niveles de IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* inferiores al valor de índice 10 deben considerarse *negativas*.
Las muestras con niveles de IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* iguales o superiores al valor de índice 10 deben considerarse *positivas*.

Valor de índice de IgM	Clasificación	Interpretación de los resultados
< 10	negativo	Ausencia de infección. Un resultado negativo para anticuerpos IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* indica generalmente que no se ha desarrollado una infección, pero no excluye con seguridad la posibilidad de una infección. Los adultos que han sido infectados repetidamente durante un período de varios años pueden no presentar una fuerte respuesta inmune de tipo IgM a los antígenos micoplásmicos.
≥ 10	positivo	Probable infección aguda.

13.2. Interpretación de los resultados combinados para IgG e IgM obtenidos en muestras individuales

Resultado para IgG	Resultado para IgM	Interpretación de los resultados
negativo	negativo	Ausencia de infección. Un resultado negativo para anticuerpos IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* indica generalmente que no se ha desarrollado una infección, pero no excluye con seguridad la posibilidad de una infección. Los adultos que han sido infectados repetidamente durante un período de varios años pueden no presentar una fuerte respuesta inmune de tipo IgM a los antígenos micoplásmicos.
negativo o positivo	positivo	Analizar una segunda muestra, recogida de dos a cuatro semanas más tarde, paralelamente a la primera muestra.
positivo	negativo	Analizar una segunda muestra, recogida de dos a cuatro semanas más tarde, paralelamente a la primera muestra.

14. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

No se han precisado las características del método de ensayo para casos en los que la prueba de Mycoplasma pneumoniae LIAISON® se utiliza junto con ensayos de otros fabricantes para detectar los marcadores serológicos específicos del *Mycoplasma pneumoniae*. En este caso, los usuarios son responsables de establecer sus propias características.

Para obtener resultados fiables es necesario utilizar una técnica especializada y seguir estrictamente las instrucciones.

La contaminación bacteriana o la inactivación por calentamiento pueden repercutir en los resultados del test.

Este test es adecuado sólo para el análisis de muestras individuales y no para pools (combinaciones) de muestras.

Los resultados del test se muestran de manera cualitativa como positivos o negativos para la presencia de anticuerpos IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae*. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad infecciosa no debe basarse en el resultado de un solo ensayo, sino que debe estar respaldado por otras pruebas clínicas, otros procedimientos diagnósticos y la opinión del médico.

Las muestras de los pacientes tratados con preparados de anticuerpos monoclonales de ratón para terapia o diagnóstico pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Como estas muestras pueden interferir en un ensayo inmunológico basado en el uso de anticuerpos monoclonales, sus resultados deben examinarse minuciosamente.

Los integrales no deben utilizarse con los dos tipos de analizadores (LIAISON® y LIAISON® XL). Una vez que se ha usado un integral con un tipo de analizador concreto, debe seguir usándose en ese analizador hasta que se termine. Por motivos de trazabilidad relacionados con lo antes expuesto, es necesario terminar el seguimiento de los pacientes con el mismo tipo de analizador. Los seguimientos deben realizarse un único tipo de analizador (LIAISON® o LIAISON® XL).

15. PRESTACIONES METODOLÓGICAS DEL KIT

15.1. Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como la capacidad del ensayo para detectar analitos específicos en presencia de factores potencialmente interferentes en la matriz de la muestra (por ejemplo, anticoagulantes, hemolisis, efectos de tratamientos de la muestra) o de anticuerpos de reactividad cruzada.

Interferencia. Estudios controlados sobre los factores potencialmente interferentes han demostrado que las prestaciones del test no están influenciadas por anticoagulantes (citrato sódico, EDTA potásico, heparina sódica), hemolisis (hasta 1000 mg/dL de hemoglobina), lipemia (hasta 3000 mg/dL de triglicéridos), bilirrubinemia (hasta 20 mg/dL de bilirrubina), albuminemia (hasta 5,0 g/dL de albúmina). Los resultados no se modifican tras cinco ciclos de congelación y descongelación de las muestras.

Reacciones cruzadas. Las reacciones cruzadas del ensayo LIAISON® Mycoplasma pneumoniae IgM se estudiaron para evaluar las interferencias potenciales por parte de anticuerpos dirigidos contra otros organismos que pueden causar síntomas clínicos similares a los de una infección por *Mycoplasma pneumoniae* (adenovirus, virus de la gripe A y B, virus de la parainfluenza, virus respiratorio sincitial, *Bordetella pertussis, Chlamydia pneumoniae, Legionella pneumophila*), por parte de anticuerpos dirigidos contra otros organismos vectores de enfermedades infecciosas (EBV, hCMV, parvovirus B19, *Toxoplasma gondii, Treponema pallidum*), así como también por parte de otras condiciones que derivan de una actividad atípica del sistema inmunitario (autoanticuerpos anti-nucleares, factor reumatoide, anticuerpos humanos anti-ratón [HAMA, human anti-mouse antibodies]). Las muestras utilizadas en estos estudios se seleccionaron previamente mediante el uso de otro ensayo de IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* comercializado. Las muestras que son negativas para anticuerpos IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* se emplearon en el estudio de reactividad cruzada. Para detectar la presencia de reactivos cruzados en las muestras se usaron ensayos que llevan la marca CE. Los resultados se refieren a los grupos de muestras analizadas y su precisión no está garantizada, dado que pueden existir diferencias entre laboratorios y centros.

Estado clínico	N.	LIAISON®		Kit A		Kit B	
		+	%	+	%	+	%
Anticuerpos IgM anti-hCMV	10	2	20	0	0	2	20
Anticuerpos IgM anti-EBV (VCA)	34	9	26	2	6	6	18
Anticuerpos IgM anti-parvovirus B19	18	2	11	1	6	5	28
Anticuerpos anti-adenovirus	5	0	0	0	0	0	0
Anticuerpos anti-virus de la gripe A y B	10	2	20	0	0	2	20
Anticuerpos anti-virus de la parainfluenza	4	0	0	0	0	0	0
Anticuerpos IgM anti-virus respiratorio sincitial (RSV)	5	0	0	0	0	0	0
Anticuerpos IgM anti-*Bordetella pertussis*	5	0	0	0	0	0	0
Anticuerpos IgM anti-*Chlamydia pneumoniae*	5	0	0	2	40	2	40
Anticuerpos IgM anti-*Legionella pneumophila*	5	0	0	0	0	0	0
Anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*	9	0	0	1	11	0	0
Anticuerpos anti-*Treponema pallidum*	5	0	0	0	0	0	0
Factor reumatoide (inmunoglobulinas anti-Fc)	5	1	20	0	0	1	20
Autoanticuerpos anti-nucleares (ANA)	5	0	0	0	0	0	0
Anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA)	5	0	0	1	20	0	0
Total	130	16	12%	7	5%	18	14%

Como se indica en la documentación (1), los ensayos comerciales para la detección de *Mycoplasma pneumoniae* IgM pueden revelar resultados falso positivos debido a la presencia de IgM en otros agentes etiológicos y no claramente relacionados con la presencia o ausencia de anticuerpos heterófilos. Dicha reactividad puede ser importante en la práctica clínica.

15.2. Precisión con LIAISON® Analyzer

Para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) se utilizaron muestras con diferentes concentraciones de analito específico. Los resultados se refieren a los grupos de muestras analizadas y su precisión no está garantizada, dado que pueden existir diferencias entre laboratorios y centros.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad interna se analizaron veinte réplicas en la misma serie.

Repetibilidad	A	B	E	C	D
Número de determinaciones	20	20	20	20	20
Media (valor de índice)	4,1	4,3	16,1	18,3	26,3
Desviación estándar (valor de índice)	0,1	0,2	0,7	0,6	0,8
Coeficiente de variación (%)	3,1	5,6	4,5	3,3	3,2
Valor mín. (valor de índice)	3,9	3,9	14,0	17,0	24,0
Valor máx. (valor de índice)	4,3	4,7	17,0	19,0	27,0

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad se han analizado veinte replicados en días diferentes (a lo sumo dos sesiones analíticas al día) utilizando tres lotes diferentes de integral. Las pruebas se realizaron en dos sitios, internamente (sitio 1) y en un laboratorio independiente (sitio 2), con dos instrumentos diferentes.

Reproducibilidad - Sitio 1	A	B	E	C	D
LOTE Nº 01					
Número de determinaciones	20	20	20	20	20
Media (valor de índice)	4,3	4,4	14,1	17,1	23,6
Desviación estándar (valor de índice)	0,4	0,3	1,6	0,9	1,9
Coeficiente de variación (%)	8,5	6,9	11,3	5,3	8,0
Valor mín. (valor de índice)	3,1	3,9	10,0	15,0	20,0
Valor máx. (valor de índice)	4,9	5,1	16,0	18,0	26,0
LOTE Nº 02					
Número de determinaciones	20	20	20	20	20
Media (valor de índice)	4,7	3,9	14,7	17,4	23,3
Desviación estándar (valor de índice)	0,4	0,2	1,6	1,3	1,4
Coeficiente de variación (%)	8,7	5,6	11,1	7,3	6,1
Valor mín. (valor de índice)	4,1	3,6	10,0	14,0	21,0
Valor máx. (valor de índice)	5,4	4,5	18,0	19,0	25,0
LOTE Nº 03					
Número de determinaciones	20	20	20	20	20
Media (valor de índice)	4,5	4,0	15,8	16,8	22,8
Desviación estándar (valor de índice)	0,6	0,3	1,9	1,8	1,2
Coeficiente de variación (%)	13,3	7,6	11,9	10,8	5,5
Valor mín. (valor de índice)	3,1	3,5	11,0	14,0	20,0
Valor máx. (valor de índice)	6,2	4,7	18,0	23,0	24,0
Coeficiente de variación entre lotes (%)	3,3	7,1	6,1	1,7	1,7

Reproducibilidad - Sitio 2	A	B	E	C	D
LOTE Nº 01					
Número de determinaciones	20	20	20	20	20
Media (valor de índice)	4,1	4,1	12,8	17,5	23,1
Desviación estándar (valor de índice)	0,4	0,3	1,1	0,9	1,9
Coeficiente de variación (%)	11,0	8,1	8,2	5,4	8,2
Valor mín. (valor de índice)	3,2	3,6	11,0	15,0	20,0
Valor máx. (valor de índice)	4,8	4,8	14,0	19,0	27,0
LOTE Nº 02					
Número de determinaciones	20	20	20	20	20
Media (valor de índice)	4,0	3,6	12,7	17,1	22,8
Desviación estándar (valor de índice)	0,4	0,3	1,1	1,0	1,3
Coeficiente de variación (%)	9,9	7,8	8,4	5,9	5,7
Valor mín. (valor de índice)	3,3	3,1	11,0	15,0	21,0
Valor máx. (valor de índice)	4,5	4,1	14,0	19,0	26,0
LOTE Nº 03					
Número de determinaciones	20	20	20	20	20
Media (valor de índice)	3,6	3,6	12,0	14,9	20,0
Desviación estándar (valor de índice)	0,7	0,6	2,0	2,5	3,0
Coeficiente de variación (%)	19,0	17,5	16,3	17,1	14,9
Valor mín. (valor de índice)	2,2	2,4	10,0	10,0	14,0
Valor máx. (valor de índice)	4,3	4,5	14,0	18,0	24,0
Coeficiente de variación entre lotes (%)	4,0	5,1	4,2	5,5	3,9

15.3. Precisión con LIAISON® XL Analyzer

Para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir, las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) se emplearon varias muestras con diferentes concentraciones de analito específico. Los resultados se refieren a los grupos de muestras analizadas y su precisión no está garantizada, dado que pueden existir diferencias entre laboratorios y centros.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad interna se analizaron veinte réplicas en la misma serie.

Repetibilidad	1	2	3	Control negativo	Control positivo
Número de determinaciones	20	20	20	20	20
Media (UA/mL)	3,9	12,6	21,3	1,1	15,3
Desviación estándar	0,27	0,90	0,84	0,074	0,93
Coeficiente de variación (%)	7,1	7,1	3,9	6,9	6,1
Valor mínimo (UA/mL)	3,4	11	19	0,9	13
Valor máximo (UA/mL)	4,4	14	23	1,2	17

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad interna se han analizado veinte réplicas con un lote de integral en días diferentes (una o dos sesiones analíticas al día).

Reproducibilidad	4	5	6	Control negativo	Control positivo
Número de determinaciones	20	20	20	20	20
Media (UA/mL)	6,5	13,8	15,1	1,0	14,7
Desviación estándar	0,45	1,2	1,3	0,15	1,5
Coeficiente de variación (%)	7,0	8,4	8,6	15,2	10,3
Valor mínimo (UA/mL)	5,6	11	12	0,7	12
Valor máximo (UA/mL)	7,6	15	17	1,2	18

15.4. Efecto saturación con altas concentraciones

Cuando se analizan muestras que contienen concentraciones de anticuerpos extremadamente elevadas, se pueden obtener concentraciones inferiores a las reales por efecto de la saturación. Sin embargo, mediante un sistema bien optimizado con dos incubaciones se excluye la posibilidad de obtener resultados por debajo de su valor, porque la señal analítica permanece siempre elevada (curva a saturación).
El análisis de tres muestras positivas para IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* de alta concentración permitió evaluar el efecto de saturación. Todas las muestras arrojaron valores de concentración elevados, conforme a lo previsto, lo que indica que la clasificación de las muestras es correcta.

15.5. Especificidad y sensibilidad diagnósticas

La especificidad y la sensibilidad diagnósticas han sido evaluadas analizando 445 muestras pertenecientes a una población con signos y síntomas de neumonía atípica precedentes de distintos laboratorios. Las muestras también han sido examinadas con un método ELISA de referencia y se han empleado la regla del consenso general y los datos serológicos para establecer los resultados esperados respecto a las muestras discrepantes (36/445). Las doces muestras clasificadas como dudosas con el método de referencia se excluyeron del análisis de los resultados. Los resultados se refieren a los grupos de muestras analizadas y su precisión no está garantizada, dado que pueden existir diferencias entre laboratorios y centros.

Concordancia con el método de referencia
Concordancia para los resultados positivos: 97,0% (96/99) (intervalo de confianza al 95%: 91,4-99,4%).
Concordancia para los resultados negativos: 94,3% (313/332) (intervalo de confianza al 95%: 91,2-96,5%).
Concordancia general: 91,9% (409/445) (intervalo de confianza al 95%: 89,0-94,3%).

Resultados después de consenso
Entre la población presumiblemente negativa estudiada, se obtuvieron siete resultados positivos y 315 resultados negativos.
Especificidad diagnóstica: 97,8% (315/322) (intervalo de confianza al 95%: 95,6-99,1%).

En la población presumiblemente positiva estudiada una muestra ha resultado negativa y 110 muestras han resultado positivas - sensibilidad diagnóstica: 99,1% (110/111) (intervalo de confianza al 95%: 95,0-100%).

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

Los controles LIAISON® Mycoplasma pneumoniae IgM (negativo y positivo) se utilizan en los inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA) para verificar la fiabilidad de los ensayos. No se han establecido las características del método de los controles LIAISON® Mycoplasma pneumoniae IgM en relación con otros ensayos o plataformas de instrumentos.

LIAISON® Analyzer. En el certificado de análisis se proporciona información específica sobre el lote de los controles, que debe introducirse manualmente en el software del analizador antes de colocar los frascos de los controles. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

LIAISON® XL Analyzer. Los códigos de barras del certificado de análisis contienen información específica sobre el lote de los controles. Esta información debe leerse con el lector manual de código de barras del LIAISON® XL Analyzer antes de introducir los frascos de los controles. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

2. MATERIALES SUMINISTRADOS

Control negativo (2 x 0,7 mL)	Suero/plasma humano no reactivo para anticuerpos IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae*, estabilizado en tampón de fosfato, albúmina sérica bovina, EDTA, detergentes, 0,2% ProClin® 300 y conservantes. Los controles se prediluyen y, por lo tanto, no deben utilizarse como muestras.
Control positivo (2 x 0,7 mL)	Suero/plasma humano reactivo para anticuerpos IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae*, estabilizado en tampón de fosfato, albúmina sérica bovina, EDTA, detergentes, 0,2% ProClin® 300 y conservantes. Los controles se prediluyen y, por lo tanto, no deben utilizarse como muestras.

Todos los reactivos se suministran listos para su uso. El intervalo de las concentraciones para cada control está impreso en el certificado de análisis e indica los límites definidos por DiaSorin para los valores de los controles obtenidos con test fiables. Cada laboratorio es responsable de adoptar límites diferentes para cumplir exigencias específicas.

3. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

– Para uso diagnóstico *in vitro*.
– Los controles no son específicos de un lote y pueden intercambiarse sin problema con lotes diferentes de integral de reactivos.
– Todos los materiales utilizados para elaborar los componentes de este kit se han analizado y se han encontrado no reactivos a la presencia de HBsAg, anti-VHC, anti-VIH-1 y anti-VIH-2. Sin embargo, dado que ningún método de análisis puede garantizar totalmente la ausencia de agentes patógenos, todo el material de origen humano deberá considerarse potencialmente infeccioso y manipularse como tal.
– Adopte las precauciones necesarias para manipular los reactivos de laboratorio.
– Los residuos deben eliminarse de acuerdo con la reglamentación local.

4. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume ni se maquille en el laboratorio donde se realiza el ensayo.

No utilice la pipeta con la boca.

Evite el contacto directo con todo material potencialmente infeccioso mediante el uso de indumentaria protectora, como batas de laboratorio, gafas protectoras y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.

Evite las salpicaduras y la formación de aerosoles. El reactivo vertido debe limpiarse con una solución de hipoclorito sódico al 5%, y eliminarse como si se tratase de material potencialmente infeccioso.

Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales usados en el ensayo deben considerarse posibles transmisores de agentes infecciosos. Por consiguiente, su eliminación debe efectuarse de conformidad con las disposiciones y normas generales establecidas por las autoridades con jurisdicción sobre el laboratorio, así como con las leyes vigentes en cada país.

Los reactivos que contienen ProClin® 300 están catalogados como sustancias irritantes en las Directivas Europeas pertinentes:
R 43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
S 24 - Evítese el contacto con la piel.
S 37 - Úsense guantes adecuados.
S 60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Cuando se reciben, los controles se deben mantener a 2-8°C en posición vertical para evitar el contacto de la solución con la tapa del frasco. No lo congele. Si se guardan sin abrir a temperatura de 2-8°C y en posición vertical, los controles permanecen estables hasta la fecha de caducidad. Después de la apertura, los controles son estables durante seis semanas si se conservan refrigerados a 2-8°C entre dos usos sucesivos. Evite la contaminación bacteriana de los controles. Los controles no deben utilizarse después de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas de los frascos.

6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

– Coloque los frascos de los controles en las gradillas C del LIAISON® Analyzer. Con una solución de control se pueden realizar al menos 20 pruebas.
– El volumen mínimo de control necesario es 420 µL (20 µL de control + 400 µL de volumen muerto).
– En el momento del uso, espere hasta que los controles se estabilicen a temperatura ambiente (20-25°C) antes de abrir los frascos y déjelos en el instrumento sólo durante el tiempo requerido para realizar la prueba de control de calidad.
– Después del uso, tape los frascos lo antes posible y manténgalos a 2-8°C en posición vertical.
– Durante la manipulación de los controles, adopte las precauciones necesarias para evitar la contaminación microbiana.

7. MANIPULACIÓN

Hágase referencia al manual operativo del instrumento para la manipulación correcta.

8. VALORES ESPERADOS

En el certificado de análisis se indican los intervalos de concentración de IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* en los controles. Estos se han establecido considerando la variabilidad de las series analíticas respecto de la curva maestra del fabricante a fin de garantizar la precisión de los resultados analíticos y de obtener indicaciones sobre la estabilidad o el deterioro de los reactivos. Si los valores experimentales de los controles están repetidamente fuera de los intervalos predefinidos, con mucha probabilidad, el ensayo se ha llevado a cabo de forma incorrecta.